



RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

MINISTÈRE DE L'INDUSTRIE

INSTITUT NATIONAL DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE

COPIE OFFICIELLE

RECEIVED

88 SEP -7 AM 8:38

GROUP 180

LE DOCUMENT CI-ANNEXÉ EST LA COPIE CERTIFIÉE CONFORME,
D'UNE DEMANDE DE TITRE DE PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
ENREGISTRÉE A L'INSTITUT NATIONAL DE LA PROPRIÉTÉ
INDUSTRIELLE.

PUBLIÉ

LE TITRE A ÉTÉ [REDACTED] LE...

6 Janvier 1984

ÉTABLIE A PARIS, LE... 23 MARS 1988

Pour le Chef de Service
Directeur de l'Institut national
de la propriété industrielle

A handwritten signature in dark ink, appearing to read "Campenon", written over a circular stamp.

Y. CAMPENON

DEMANDE DE
(voir case cochée)

- ☒ BREVET D'INVENTION ☐ CERTIFICAT D'ADDITION
☐ CERTIFICAT D'UTILITÉ ☐ DEMANDE DIVISIONNAIRE
☐ TRANSFORMATION D'UNE DEMANDE DE BREVET EUROPÉEN.

DATE DE
REMISE
DES PIÈCESDATE DE
DÉPÔTN° D'ENREGISTREMENT
NATIONAL

82 11679

021071 1982

COJE POSTAL DU LIEU DE DÉPÔT

DÉPÔT POSTAL 99

DUPLICATA DE LA REQUÊTE

RATTACHEMENT DE LA DEMANDE DIVISIONNAIRE OU DE LA TRANSFORMATION
NATURE, N° ET DATE DE LA DEMANDE INITIALE:

00000

NOM ET

CABINET E GUTMAN ET
Y PLASSERAUD
67 RD HAUSSMANN
75008 PARISRÉFÉRENCE DU DEMANDEUR
OU DU MANDATAIRE:

CHP/87 82 01

DATE DU POUVOIR GÉNÉRAL ET NUMÉRO
DE TÉLÉPHONE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE:

230 37 77

1) TITRE DE L'INVENTION

Nouveaux disaccharides contenant un motif α -L-idopyranose,
et leur préparation.NOMBRE DE
REVENDEMENTS:

2) DEMANDEUR: NOM ET PRÉNOMS OU DÉNOMINATION ET FORME JURIDIQUE:

N° SIRENE. LE CAS ÉCHÉANT

1

CHOAY S.A.

3) NATIONALITÉ:

Française

4) ADRESSE COMPLÈTE:

48, avenue Théophile Gautier
75782 PARIS CEDEX 16

PAYS

FRANCE

5) INVENTEUR

LE DEMANDEUR EST
L'INVENTEUR

NON

6) LE DEMANDEUR REQUIERT QUE
L'ÉTABLISSEMENT DE L'AVIS
DOCUMENTAIRE SOIT DIFFÉRÉ

OUI

LE DEMANDEUR REQUIERT LE
BÉNÉFICE DU PAIEMENT ÉCHELONNÉ
DE LA TAXE D'AVIS DOCUMENTAIRE

NON

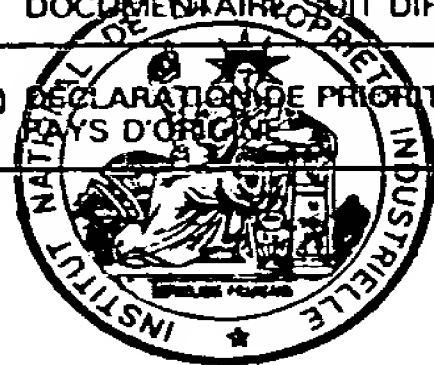
LE DEMANDEUR BÉNÉFICIE
POUR L'INVENTION CONCERNÉE, D'UNE DÉCISION
DE RÉDUCTION DES TAUX DE TAXE

NON

7) DÉCLARATION DE PRIORITÉ
PAYS D'ORIGINE

DATE DE DÉPÔT

NUMÉRO



8) RATTACHEMENT DU CERTIFICAT D'ADDITION:

NATURE DE LA DEMANDE PRINCIPALE:

ADDITIONS ANTÉRIEURES: 1^{er} N°2^e N°

N°

3^e N°

DATE DE DÉPÔT:

4^e N°SIGNATURE
DU DEMANDEUR
OU
DE SON
MANDATAIRE

SIGNATURE DU PRÉPOSÉ À LA RÉCEPTION

SIGNATURE APRÈS ENREGISTREMENT
DE LA DEMANDE À L'INPI

2 529 557
82 11679
NATURE DU DOCUMENT A1 DEMANDE
DE BREVET D'INVENTION
2 JUILLET 1982
01 DU 06/01/84
DATE DE DELIVRANCE
BOPI DELIVRANCE N°
CLASSIFICATION INTERNATIONALE
C07H 3/04 ;
CLASST 3

INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIETE INDUSTRIELLE
PAGE DE GARDE

CODE POSTAL DU LIEU DE DEPOT

DEPOT POSTAL - 99

RATTACHEMENT DE LA DEMANDE DIVISIONNAIRE OU DE LA TRANSFORMATION
NATURE, N° ET DATE DE LA DEMANDE INITIALE:

NOM ET ADRE

CABINET E GUTMAN ET
Y PLASSERAUD
67 BD HAUSSMANN
75008 PARIS

00000

82 11679

CHP 07 02 01

280 67 77

1) TITRE DE L'INVENTION (54)

Nouveaux disaccharides contenant un motif α -L-idopyranose,
et leur préparation.

2) DEMANDEUR : NOM ET PRENOMS OU DENOMINATION ET FORME JURIDIQUE: (71)

N° SIRENE, LE CAS ECHÉANT

1

CHOAY S.A.

4) ADRESSE COMPLETE:

PAYS

FRANCE

5) INVENTEUR (72)

LE DEMANDEUR EST
L'INVENTEUR :

NON

7) DECLARATION DE PRIORITE (30)

DATE DE DEPOT (32)

NUMERO (33)



Nbr

P. de G. (Req)

P. de G. (Pub)

Des et Rev

Avis Doc

P. de Dessin

N. inventeurs

8) RATTACHEMENT DU CERTIFICAT D'ADDITION:

NATURE DE LA DEMANDE PRINCIPALE:

ADDITIONS ANTERIEURES : 1° N°

2° N°

N°

3° N°

Abrégé

DATE DE DEPOT:

TOTAL

23

INSTITUT NATIONAL DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE

DIVISION ADMINISTRATIVE DES BREVETS

DÉSIGNATION DE L'INVENTEUR

(si le demandeur n'est pas l'inventeur ou l'unique inventeur)

87 82 01

N° d'enregistrement national

82-11679

Titre de l'invention : Nouveaux disaccharides contenant un motif -L-
idopyranose et leur préparation.

La Demanderesse CHOAY S.A.

Représentée par son mandataire CABINET PLASSERAUD
84, rue d'Amsterdam
75009 PARIS

~~DEMANDERESSE~~

désigne (nt) en tant qu'inventeur (s) (nom, prénoms, adresse)

SINAY Pierre

5, rue Jacques Monod
45100 ORLEANS

NASSR Mahmoud A.M.

7, rue Parmentier
45100 ORLEANS

PETITOU Maurice

27, rue du Javelot - Appt. 201
75645 PARIS CEDEX 13

(France)



Date et 2 JUILLET 1982

signature (s) du (des) demandeur (s) ou du mandataire

CABINET PLASSERAUD

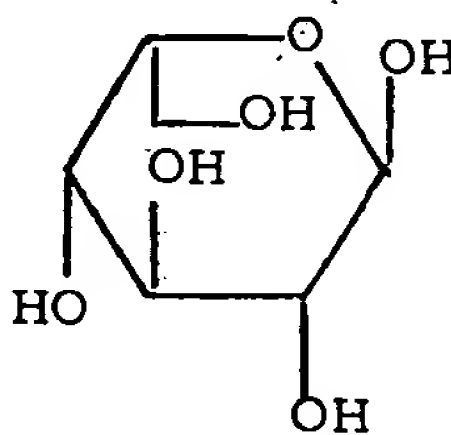
Par Procuration

"Nouveaux disaccharides contenant un motif α -L idopyranose et leur préparation"

L'invention concerne de nouveaux disaccharides contenant un motif α -L idopyranose comme unité non réductrice.

Elle concerne également un procédé de synthèse de chaînes disaccharidiques contenant un tel motif.

On rappelle que l' α -L-idopyranose répond à la formule suivante :



Dans les disaccharides de l'invention, l'unité non réductrice est donc constituée par un motif A répondant à la structure de l' α -L-idopyranose, enchaîné, par une liaison glycosidique, à un motif B constitué par un ose présentant, par exemple, la structure du glucose, du galactopyranose ou avantageusement la structure de base d'un constituant de chaîne héparinique, en particulier celle d'un motif de type D-glucosamine.

D'une manière préférée, le motif A à structure idopyranose est relié au motif B par son carbone anomère (en position 1). La liaison glycosidique est plus spécialement une liaison α -L.

Des disaccharides correspondant sont du type $1 \xrightarrow{\alpha} 2$, $1 \xrightarrow{\alpha} 3$, $1 \xrightarrow{\alpha} 4$ et $1 \xrightarrow{\alpha} 6$.

Dans ces disaccharides, les groupes -OH sont libres, engagés dans des groupements fonctionnels ou protégés par des groupements de blocage identiques, ou différents les uns des autres et compatibles entre eux et avec les groupements fonctionnels éventuellement présents.



Des disaccharides préférés renferment comme motif B, un motif répondant à la structure de base des constituants de chaînes hépariniques, avantageusement un motif de type N-acétyl D-glucosamine.

5 D'une manière générale, les disaccharides de l'invention constituent des substances de référence pour des études de structure.

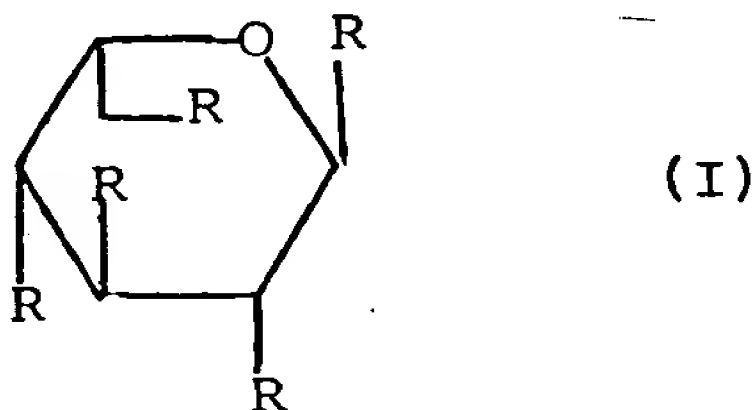
Ils sont également utilisables comme substrats d'enzymes.

10 Ils présentent, en outre, un grand intérêt en tant qu'intermédiaires en synthèse osidique et peuvent donner lieu par allongement de chaînes à divers composés biologiquement actifs.

15 Ils permettent, en particulier, la synthèse d'oligosaccharides actifs constitutifs de l'héparine ou de l'héparan sulfate.

Les disaccharides de l'invention sont obtenus selon un procédé caractérisé en ce qu'on fait réagir

A - un bromure d' α -L- idopyranosyle de structure (I)



25 dans laquelle l'un quelconque des groupements R représente un atome de brome et les autres groupements, identiques ou différents les uns des autres, représentent des groupes-OY dans lesquels Y représente des groupements protecteurs de radicaux hydroxyle, ou des groupes fonctionnels, ces groupes protecteurs ou ces groupes fonctionnels étant choisis parmi les groupes compatibles, chimiquement inertes dans les conditions mises en oeuvre pour réaliser la synthèse osidique, les groupements protecteurs pouvant en outre être éliminés sélectivement afin d'introduire les

30 groupements désirés sur la chaîne osidique, avec

B - un motif ose renfermant un seul groupe -OH, libre, les autres positions étant protégées ou substituées par des groupements répondant aux définitions données ci-dessus pour le bromure et conférant au groupe -OH une réactivité
 5 suffisante pour obtenir la condensation souhaitée, cette réaction étant effectuée à une température et pendant une durée suffisante pour obtenir l'établissement d'une liaison osidique entre les deux motifs ose, dans un solvant organique permettant d'opérer à la température requise, et
 10 en présence de tamis moléculaire et d'un catalyseur.

Grâce à la mise en oeuvre de ces dispositions, il est possible d'obtenir, avec un rendement élevé, des disaccharides renfermant un motif de structure α -L-idopyranose.

Or, on sait que ce motif se trouve présent dans
 15 diverses substances biologiques et notamment dans les composés héparinoïdes. On mesure donc l'intérêt considérable du procédé de l'invention pour la synthèse de motifs constitutifs de tels composés.

Ce procédé permet avantageusement d'obtenir
 20 des disaccharides diversement substitués. A cet égard, les groupes de blocage des motifs ose sont choisis de manière à permettre l'introduction des groupements souhaités et en ce qui concerne le motif β de manière à conférer une réactivité suffisante au groupe -OH libre pour établir la liaison glycosidique recherchée.



25 Parmi les groupements protecteurs utilisables, on peut citer les groupements benzyle, benzyldène, acétyle ou encore des ponts anhydro entre deux groupements -OH, et analogues.

30 Les motifs ose de départ peuvent également renfermer les groupements fonctionnels recherchés pour le disaccharide final dès lors que ces groupements n'interfèrent pas dans la synthèse osidique.

35 On peut ainsi avoir recours à un motif β constitué par un glucopyranose comportant en position 2, un groupe de type -NH₂

dans lequel X représente, par exemple, un groupe acétyle, et qui correspond donc à un motif du type des motifs constitutifs des chaînes d'héparine.

5 Ce procédé permet également avantageusement d'accéder à des disaccharides diversement liés et ce, selon la position, d'une part de l'atome de brome sur le bromure du dérivé d' α -L-idopyranosyle, d'autre part du groupe -OH libre sur le motif ose.

10 D'une manière préférée, on met en oeuvre, comme bromure de structure I, un dérivé dans lequel l'atome de brome se trouve sur le carbone anomère en position 1.

Il est donc ainsi possible, grâce aux conditions mises en oeuvre, d'établir entre, d'une part le monosaccharide possédant la structure α -L-idopyranose et, d'autre
15 part, le motif ose, des liaisons de type $1 \longrightarrow 2$, $1 \longrightarrow 3$, $1 \longrightarrow 4$ ou encore $1 \longrightarrow 6$.

Selon un mode plus particulièrement préféré de réalisation du procédé de l'invention, on met en oeuvre un dérivé d'idopyranose substitué par un atome de brome en position 1,
20 et un motif ose β comportant le groupe -OH libre en position 4. Il est alors possible d'obtenir les disaccharides pouvant présenter, selon les substituants présents sur le motif β , une structure du type de celles de motifs constitutifs de substances héparinoïdes.

25 En ce qui concerne les conditions mises en oeuvre pour réaliser le procédé de l'invention, on opérera à une température plus ou moins élevée, selon la réactivité de β . Le solvant organique est choisi de manière appropriée.

30 Lorsque la condensation requiert une température supérieure à 100°C, on opérera avantageusement dans un solvant du type du nitrobenzène.

Pour des températures inférieures, on utilisera avantageusement des solvants tels que le benzène ou le dichloroéthane.

35 Des mélanges de solvants peuvent être également utilisés.



Comme catalyseur, on utilise, de préférence, des dérivés mercuriques tels que le cyanure ou le bromure mercurique.

5 Le procédé de l'invention peut être naturellement mis en oeuvre avec différents types de composés dès lors qu'ils renferment à une extrémité de chaîne les motifs définis ci-dessus et que leur structure et leurs substitutions n'interviennent pas dans la réaction de glycosylation.

10 Les disaccharides comportant comme dans l'invention un motif A à structure α -L-idopyranose comme unité non réductrice peuvent être obtenus à partir de disaccharides comportant un motif A' à structure glucopyranose par isomérisation de la fonction alcool primaire
15 en position 6.

Cette isomérisation est avantageusement réalisée par hydrogénation d'une double liaison sur le carbone en position 6, à l'aide d'un agent d'hydrogénation tel que l'hydrure de bore, dans des conditions, notamment de concentration en réactifs, de température et durée de réaction,
20 permettant la réalisation de l'hydrogénation souhaitée sans altération de la structure.

25 Le double liaison sur le carbone en position 6 est avantageusement obtenue par traitement d'un disaccharide comportant un groupe $-CH_2 I$ en 6 à l'aide de fluorure d'argent.

30 Selon un mode préféré de réalisation de cette variante, on met en oeuvre un disaccharide de départ dont le motif B' comporte le ou les groupements fonctionnels désirés et dont les autres positions sont bloquées par des groupements avantageusement identiques, compatibles avec le ou les groupements fonctionnels. Ces groupements de blocage et ce ou ces groupements fonctionnels sont, en outre, compatibles avec les groupements du motif A' de départ ou les
35 groupements introduits au cours du procédé et sont également inertes vis-à-vis des réactions mises en oeuvre.



D'une manière avantageuse, on introduit, en position 6 du motif A' un groupe $-CH_2 I$, par exemple, soit à l'aide d'un agent d'ioduration tel que le N-iodo-succinide puis on procède au blocage des groupes $-OH$ libres du motif A',
 5 ou bien on procède en premier lieu à ce blocage et on soumet un groupe $-O$ -tosyle préalablement introduit en position 6 à l'action d'un agent d'ioduration tel que du iodure de sodium. Pour obtenir le disaccharide comportant une double liaison sur le carbone en position 6, on soumet avantageusement
 10 le dérivé iodé à l'action d'un agent permettant l'élimination de l'acide iodhydrique, par exemple à l'action de fluorure d'argent. Le disaccharide comportant un motif A' de type 6-désoxy- β -D-xylo-hex-5-énopyranosyle est _____ ensuite soumis à une réaction d'hydrogéné-
 15 tion conduisant à l'isomérisation de la liaison en position 6 et à la formation d'un alcool primaire. La structure souhaitée étant mise en place, il est alors possible de procéder aux opérations de blocage sélectif : ou non et/ou introductions de groupements fonctionnels comme souhaité.

20 D'autres caractéristiques et avantages de l'invention sont rapportés dans les exemples 1 à 6 qui suivent. Le schéma général des réactions mises en oeuvre dans ces exemples est rapporté sur les figures 1 à 4. Les numéros utilisés dans ces figures pour désigner les produits correspondent à ceux apparaissant dans les exemples. Les symboles utilisés dans ces figures ont les significations suivantes : Ac = acétyle, Me = méthyle, Bn = benzyle, Ts = tosyle.



EXEMPLE 1 : Préparation du 2-O-(α -L-idopyranosyl)-D-galactose (composé 6) -

Cette synthèse est effectuée selon les quatre étapes a) à d) suivantes.

- 5 a) Préparation du bromure de 2,3,4,6-tétra-O-acétyl- α -L-idopyranosyle (composé 2)

Une solution de 5 g de penta-O-acétyl- α -L-idopyranose (composé 1, préparé selon P. PERCHEMLIDES, T. OSAWA, E. A.

DAVIDSON et R. W. JEANLOZ, Carbohydr. Res., 3 (1967) 463),

- 10 dans du dichlorométhane anhydre (100 ml) est saturée à 0°C avec du gaz bromhydrique. Après 2 h à température ambiante, le milieu réactionnel est versé sur de la glace et extrait au chloroforme. La phase organique est lavée avec de l'eau, séchée (chlorure de calcium) et évaporée. Le résidu est
- 15 cristallisé dans le mélange dichloroéthane-éther-pentane, donnant le bromure 2 (5 g, 95%), P.F. 126-127 °C
 $[\alpha]_D^{20} = -120^\circ$ (c : 0,75, chloroforme).

- b) Préparation du benzyl 3,4,6-tri-O-benzyl-2-O (2,3,4,6-tétra-O-acétyl- α -L-idopyranosyl)- β -D-galactopyranoside (composé 4)

20 Une solution de 200mg de benzyl-3,4,6-tri-O-benzyl- β -D-galactopyranoside (composé 3 préparé selon la méthode de J. C. JACQUINET et P. SINAY décrite dans Tetrahedron, 32 (1976) 1693) dans le dichloroéthane anhydre (10 ml)

- 25 est agitée sous azote sec à 90° C en présence de tamis moléculaire 4 Å (300 mg) et de bromure mercurique (80 mg), jusqu'à ce que le volume soit réduit de moitié. Une solution du bromure 2 (300 mg) dans du dichloroéthane (10 ml) est ajoutée durant 3 h; le volume du milieu réactionnel étant
- maintenu constant par distillation continue du dichloroéthane. 3 heures après la fin de l'addition, le milieu réactionnel est refroidi à la température ambiante, dilué avec du chloroforme (100 ml), filtré, lavé successivement avec une
- 35 solution aqueuse à 10% d'iodure de potassium, avec une solution aqueuse diluée d'hydrogénocarbonate de sodium, avec de l'eau, séché (sulfate de sodium) et évaporé. Le résidu est purifié par chromatographie sur une colonne de gel de silice (30 g) à l'aide du mélange acétate d'éthyle-hexane



(1 : 1, v/v), donnant le disaccharide 4 à l'état de sirop (290 mg, 90%), $[\alpha]_D = -57^\circ$ (c : 1,1, chloroforme).

Analyse calculée pour $C_{48}H_{54}O_{15}$: C, 66,20 ; H, 6,25 ; O, 27,55. Trouvé : C : 65,98 ; H, 6,13 ; O, 27,35%.

5 c) Préparation du benzyl-3,4,6-tri-O-benzyl-2-O-(α -L-idopyranosyl)- β -D-galactopyranoside (composé 5)

Le disaccharide 4 (200 mg) est dissous dans du méthanol anhydre (10 ml) et une solution M de méthylate de sodium dans le méthanol anhydre (0,2ml) est ajoutée. Au bout
10 d'une heure, le milieu réactionnel est neutralisé à l'aide de résine Dowex 50 (H^+), filtré et évaporé. Le résidu est purifié par chromatographie sur une colonne de gel de silice (10 g) à l'aide du mélange dichloroéthane-acétone (7:3, v/v) donnant le disaccharide 5 (154 mg, 95%), à l'état
15 pur, $[\alpha]_D = -43^\circ$ (c : 1,4, chloroforme).

Analyse calculée pour $C_{40}H_{46}O_{11}$: C, 68,36 ; H, 6,60 ; O, 25,04 ; trouvé : C, 68,38 ; H, 6,64 ; O, 25,27%.

d) Préparation du 2-O-(α -L-idopyranosyl)-D-galactose (composé 6)

20 Le disaccharide 5 (200 mg) est hydrogéné pendant 48 h dans de l'éthanol (10 ml) contenant de l'acide acétique (0,1 ml), en présence de palladium sur charbon à 10% (50 mg). Le produit obtenu est purifié par chromatographie sur une colonne de gel de silice (15 g), à l'aide de
25 mélange méthanol-chloroforme (4:1, v/v), donnant le disaccharide libre 6 sous forme d'une poudre blanche hygroscopique (97,5 mg, 100%), $[\alpha]_D = +28^\circ$ (c : 1,2, méthanol) + 15° (10 min) \rightarrow + 93° (2 h) (c 1,2 eau).

Analyse calculée pour $C_{12}H_{22}O_{11}$: C, 42,10 ; H, 6,48 ; trouvé : C, 41,71 ; H, 6,48%.

EXEMPLE 2 : Synthèse du 1,2 : 3,4-di-O-isopropylidène-6-O(α -L-idopyranosyl)- α -D-galactopyranose (composé 9)

On prépare tout d'abord le 1,2 : 3,4-di-O-isopropylidène-6-O (2,3,4,6-tétra-O acétyl- α -L-idopyranosyl)- α -D-galactopyranose (composé 8)
35

Une solution de 300 mg de 1,2 : 3,4-di-O-isopropylidène- α -D-galactopyranose (composé 7 préparé selon R.C. HOCKETT, H.G. FLETCHER et J.B. AMES dans J.Am.Chem.Soc., 63 (1941)



- 2516), dans du dichloroéthane anhydre (20 ml) est agitée sous azote sec à 90°C en présence de tamis moléculaire 4 Å (500 mg) et de bromure mercurique (300 mg), jusqu'à ce que le volume soit réduit de moitié. Une solution de bromure 2 (550 mg) dans du dichloroéthane (10 ml) est ajoutée et, après 24 h, une nouvelle solution de bromure 2 (125 mg) dans du dichloroéthane (2ml). 24 h après cette dernière addition, le milieu réactionnel est traité comme décrit plus haut pour la préparation du disaccharide 4. Une purification par chromatographie sur une colonne de gel de silice (50 g) à l'aide du mélange dichloroéthane-acétone (9:1,v/v) conduit au disaccharide 8, qui est cristallisé dans le mélange dichloroéthane/pentane (650 mg, 95%), P.F. 160-161°C, $[\alpha]_D = -86^\circ$ ($c : 1$, chloroforme).
- 15 Analyse calculé pour $C_{26}H_{38}O_{15}$: C, 52,88 ; H, 6,48 ; O, 40,64.
trouvé : C, 52,89 ; H, 6,41 ; O, 40,63%.
- Le dérivé 8 est ensuite mis en oeuvre pour la préparation du 1,2 : 3,4-di-O-isopropylidène-6-O(α -L-idopyranosyl)- α -D-galactopyranose (composé 9), en procédant comme suit : Le disaccharide 8 (300 mg) est désacétylé selon la technique décrite précédemment pour la préparation du disaccharide 5. Une purification par chromatographie sur une colonne de gel de silice (15 g) à l'aide du mélange méthanol-chloroforme (4:1,v/v) conduit au disaccharide 9, obtenu sous forme d'une poudre amorphe et hygroscopique (204 mg, 95%), $[\alpha]_D = -63^\circ$ ($c : 0,7$, méthanol).
- 25 Analyse calculé pour $C_{18}H_{30}O_{11}$: C, 51,18 ; H, 7,16 ; O, 41,66 ;
trouvé : C, 50,86.

EXEMPLE 3 : Préparation du benzyl-2,3,4-tri-O-benzyl-6-O-(α -L-idopyranosyl)- β -D-galactopyranoside (composé 12)

On prépare tout d'abord le benzyl-2,3,4-tri-O-benzyl-6-O(2,3,4,6-tétra-O-acétyl- α -L-idopyranosyl)- β -D-galactopyranoside (composé 11)

- 35 Une solution de 200 mg de benzyl-2,3,4-tri-O-benzyl- β -D-galactopyranoside (composé 10, préparé selon K. MIYAI et R.W. JEANLOZ, Carbohydr. Res., 21 (1972) 45), dans du dichloro-



éthane anhydre (15ml) est agitée sous azote sec à 90°C en présence de tamis moléculaire 4 Å (300 mg) et de bromure mercurique (80 mg), jusqu'à ce que le volume soit réduit à 5 ml. Une solution de bromure 2 (160 mg) dans du dichloro-
 5 éthane (10 ml) est ajoutée et le milieu réactionnel est agité à 90°C pendant 24 h. Un traitement analogue à celui décrit précédemment pour la préparation du disaccharide 4 conduit à un résidu qui est purifié par chromatographie sur une colonne de gel de silice (30 g) à l'aide du
 10 mélange dichloroéthane-acétone (12:1, v/v), donnant le disaccharide 11 (227 mg, 70%), $[\alpha]_D^{25} = -30^\circ$ (c:1, chloroforme). Analyse: calculé pour $C_{48}H_{54}O_{15}$: C, 66,20 ; H, 6,25 ; O, 27,55. Trouvé : C, 65,96 ; H, 6,23 ; O, 27,66%.
 Le composé 11 est ensuite mis en oeuvre pour la préparation
 15 du benzyl-2,3,4-tri-O-benzyl-6-O-(α -L-idopyranosyl)- β -D-galactopyranoside (composé 12) en procédant comme suit : Le disaccharide 11 (200 mg) est désacétylé selon la technique décrite précédemment pour la préparation du disaccharide 5. Une purification par chromatographie sur une colonne de
 20 gel de silice (10g) à l'aide du mélange chloroforme-méthanol (9:1, v/v) conduit au disaccharide 12, obtenu sous forme amorphe (147 mg, 90%), $[\alpha]_D^{25} = -88^\circ$ (c : 0,8, chloroforme).
 Analyse: calculé pour $C_{40}H_{46}O_{11}$: C, 68,36 ; H, 6,60 ; O, 25,04,
 25 Trouvé : C, 68,74 ; H, 6,68 ; O, 25,37%.

EXEMPLE 4 : Préparation du 2-acétamido-1,3,6-tri-O-acétyl-4-O-(2,3,4,6-tétra-O-acétyl- α -L-idopyranosyl)-2-désoxy- β -D-glucopyranose (composé 16) -

La préparation de ce composé est effectuée selon les étapes a) à c) suivantes.

a) Préparation du 2-acétamido-3-O-acétyl-1,6-anhydro-2-désoxy-4-O-(2,3,4,6-tétra-O-acétyl- α -L-idopyranosyl)- β -D-glucopyranose (composé 14)

Une solution de 1 g de 2-acétamido-3-O-acétyl-1,6-anhydro-
 35 2-désoxy- β -D-glucopyranose (composé 13 préparé selon F. SCHMITT et P. SINAY, Carbohydr. Res., 29 (1973) 99.) dans du nitrobenzène anhydre (40 ml) est agitée pendant 2 h à 130°C en présence de tamis moléculaire 4 Å en poudre (1 g),



préalablement activé pendant 48 h à 250°C. Une solution de bromure 2 (1,43 g) dans le dichloroéthane (10 ml) est ajoutée et le milieu réactionnel est maintenu à 130°C pendant 10 h. Une nouvelle addition de bromure 2 (0,7 g) dans le dichloroéthane (5 ml) est alors effectuée et la réaction poursuivie pendant 24 h. Un traitement analogue à celui décrit pour la préparation du disaccharide 4 conduit à un composé qui est purifié par chromatographie sur une colonne de gel de silice (200 g) à l'aide du mélange acétate d'éthyle-éther (5:1, v/v), donnant le disaccharide 14 (1,8 g, 85%), $[\alpha]_D^{20} = 70,6^\circ$ (c : 1, chloroforme).
 Analyse: calculé pour $C_{24}H_{33}O_{14}N$: C, 51,52 ; H, 5,94 ; N, 2,50 ; O, 40,03. Trouvé : C, 51,35 ; H, 5,89 ; N, 2,51 ; O, 40,05%.

15 b) Préparation du 2-acétamido-1,6-anhydro-2-désoxy-4-O-(α -L-idopyranosyl)- β -D-glucopyranose (composé 15)

Le disaccharide 14 (500 mg) est désacétylé selon la technique décrite précédemment pour la préparation du disaccharide 5. Une purification par chromatographie sur une colonne de gel de silice (40 g) à l'aide du mélange acétate d'éthyle-méthanol (2:1, v/v) conduit au disaccharide 15 (300 mg, 90%), $[\alpha]_D^{20} = -65^\circ$ (c : 1,6, méthanol).

Analyse: calculé pour $C_{14}H_{23}O_{10}N, 0,5 H_2O$: C, 44,92 ; H, 6,46 ; N, 3,74. Trouvé : C, 44,95 ; H, 6,61 ; N 4,27%.

25 c) Préparation du 2-acétamido-1,3,6-tri-O-acétyl-4-O-(2,3,4,6-tétra-O-acétyl- α -L-idopyranosyl) 2-désoxy- β -D-glucopyranose (composé 16)

Le disaccharide 14 (150 mg) est acétolysé à température ambiante pendant 12 heures en présence d'un mélange (5ml) anhydride acétique-acide acétique et acide sulfurique concentré (7:3:0,1, v/v/v). Le milieu réactionnel est ensuite versé dans de l'eau glacée et agité pendant 4 heures, puis extrait avec du chloroforme (100 ml). La phase chloroformique est lavée avec une solution aqueuse diluée d'hydrogénocarbonate de sodium, avec de l'eau, séchée (sulfate de sodium) et évaporée. Le résidu est purifié par chromatographie sur une colonne de gel de silice (10 g) à l'aide du mélange acétate d'éthyle-éther (5:1, v/v) donnant le disaccharide 16 qui est



cristallisé dans le mélange acétate d'éthyle-pentane (120 mg, 64%), PF 120°C, $[\alpha]_D = 40^\circ$ (c : 1, chloroforme).

Analyse élémentaire: calculé pour $C_{28}H_{39}O_{18}N$: C, 49,63 ; H, 5,80 ; O, 42,50 ; N, 2,07,

5 trouvé : C, 49,68 ; H, 5,91 ; O, 42,16 ; N, 2,12%.

EXEMPLE 5 : Synthèse du 2-acétamido-2-désoxy-4-O-(α -L-idopyranosyl)-D-glucopyranose (composé 17)

Le disaccharide 16 (100 mg) est désacétylé selon la technique décrite précédemment pour la préparation du disaccharide 5.

10 Une purification par chromatographie sur une colonne de gel de silice (5 g) à l'aide du mélange méthanol-chloroforme (3:2, v/v) conduit au disaccharide 17 qui est cristallisé dans de l'éthanol aqueux (48 mg, 85, PF 143-145°C, $[\alpha]_D = -20^\circ \rightarrow -31^\circ$ (c 0,8, eau-méthanol, 19:1, v/v, au bout de 14 h.

15 Analyse: calculé pour : $C_{14}H_{25}NO_{11} \cdot 0,5 H_2O$: C, 42,86 ; H, 6,68 ; N, 3,57. Trouvé : C, 42,83 ; H, 6,68 ; N, 3,59%.

EXEMPLE 6 : variante de préparation du composite 16 selon les étapes 1 à 6.

20 1. Préparation du benzyl 2-acétamido-3,6-di-O-benzyl-2-désoxy-4-O-(6-O-tosyl- β -D-glucopyranosyl)- α -D-glucopyranoside (composé 19) -

Une solution du composé 18 (0,2g) dans la pyridine (5ml) est refroidie à 0°C. On ajoute alors du chlorure de tosylo (0,07 g) dissous dans la pyridine (2 ml). La réaction est abandonnée à la température ambiante pendant 24 heures.

25 Après addition de quelques goutte d'eau, le mélange est agité pendant une demi-heure avant d'être versé sur de la glace. Après reprise par du chloroforme (0,2 l), la phase chloroformique est lavée successivement avec une solution aqueuse à 10% de $KHSO_4$, de l'eau, une solution saturée de $NaHCO_3$ et de l'eau. Après séchage sur sulfate de sodium et concentration à sec, le résidu est chromatographié sur gel de silice (20 g) dans un mélange acétate d'éthyle/méthanol (15/1, v/v). On obtient ainsi le composé 19 pur (150 mg ; 60%). $[\alpha]_D^{20} = +74^\circ$ (1,1 chloroforme).

35 Analyse élémentaire : Calculé pour $C_{42}H_{49}O_{13}N S$ (807,912) C, 62,40 ; H, 6,11 ; N, 1,73 ; O, 25,74 ; S, 3,97.

Trouvé : C, 62,77 ; H, 6,13 ; N, 1,73 ; O, 24,98 ; S, 3,48.



Le spectre RMN confirme la structure recherchée.

2: Préparation du benzyl 2-acétamido-3,6-di-O-benzyl-2-désoxy-4-O-(2,3,4-tri-O-acétyl-6-O-tosyl- β -D-glucopyranosyl)- α -D-glucopyranoside (composé 20)

- 5 A une solution du composé 19 (200 g- dans la pyridine (5ml), on ajoute de l'anhydride acétique (5ml). Après une nuit à température ambiante, le mélange réactionnel est concentré à sec. Le résidu est chromatographié sur une colonne de gel de silice (25 g) dans un mélange acétate d'éthyle/hexane
- 10 (3/1, v/v). On obtient ainsi le composé 20 (208 mg, 90%) sous forme de sirop. $[\alpha]_D^{20} = + 70^\circ$ (1, chloroforme). Analyse élémentaire : Calculé pour $C_{48}H_{55}NSO_{16}$ (934,023) C, 61,78 ; H, 5,94 ; N, 1,5 ; O, 27,41 ; S, 3,43. Trouvé : C, 61,58 ; H, 5,91 ; N, 1,27 ; S, 3,23.

- 15 Le spectre RMN confirme la structure recherchée.

3: Préparation du benzyl 2-acétamido-3,6-di-O-benzyl-2-désoxy-4-O(2,3,4-tri-O-acétyl-6-désoxy-6-iodo- β -D-glucopyranosyl)- α -D-glucopyranoside (composé 21) -

- 20 1) A partir du composé 20-

A une solution du composé 20 (150 mg dans l'acétone (5 ml), on ajoute de l'iodure de sodium (150 mg). Le mélange est chauffé à 70°C dans un tube scellé pendant 7 heures. Après évaporation à sec, le résidu est repris par l'eau et le chloroforme. La phase chloroformique est lavée avec de l'eau et séchée sur sulfate de sodium. Après évaporation à sec, le résidu est cristallisé dans un mélange chloroforme/pentane (102 mg, 70%). p.f. 173-174°C $[\alpha]_D^{20} = + 78,5^\circ$ (1,2, chloroforme).

- 25 30 Analyse élémentaire : Calculé pour $C_{41}H_{48}O_{13}NI$ (889,733) C, 55,34 ; H, 5,44 ; N, 1,57 ; O, 23,38 ; I, 14,28. Trouvé : C, 54,98 ; H, 5,52 ; N, 1,45 ; O, 23,57 ; I, 14,10. Le spectre RMN correspond à la structure recherchée.



2) A partir du composé 18 via le composé 22 -

Une solution du composé 18 (1 g) et de N-iodo-succinimide (1 g) dans le DMF (50 ml) est agitée à 0°C pendant 30 minutes. De la triphénylphosphine (1,2 g) est alors ajoutée lentement en une heure. Après chauffage à 50°C pendant une heure, du méthanol (1 ml) est ajouté puis le mélange réactionnel est concentré à sec. Le produit est extrait au chloroforme. La phase chloroformique est lavée avec de l'eau, avec une solution de thiosulfate de sodium puis de nouveau avec de l'eau. Après séchage et évaporation du chloroforme, le résidu est déposé sur une colonne de gel de silice (50 g). Le composé 19 contaminé par de la triphénylphosphine est élué par un mélange acétate d'éthyle méthanol (15/1, v/v).

Après évaporation du solvant de chromatographie et séchage, le dérivé 19 est dissous dans la pyridine (10 ml) puis acétylé par de l'anhydride acétique (10 ml). Après traitement classique, le dérivé 21 est cristallisé dans un mélange chloroforme/pentane. Le rendement par rapport au composé 18 est de 85%. Ce composé est en tout point analogue à celui obtenu à partir du composé 20.

4: Préparation du benzyl 2-acétamido-3,6-di-O-benzyl-2-désoxy-4-O-(2,3,4-tri-O-acétyl-6-désoxy- β -D-xylo-hex-5-(énopyranosyl)- α -D-glucopyranoside-2 (composé 23) -

A une solution du composé 21 (400 mg) dans la pyridine anhydre (5ml), on ajoute du fluorure d'argent (400 mg). La suspension est agitée dans le noir pendant 48 heures. Le mélange est ensuite versé sous agitation dans l'éther (200 ml). Après filtration, la phase étherée est lavée avec une solution à 10 % de NaHSO_4 , puis avec une solution à 10% de NaHCO_3 et enfin avec de l'eau. Après séchage et concentration à sec, le résidu est cristallisé dans un mélange chloroforme/éther



(206 mg ; 60%). p.f. 184-185°C. $[\alpha]_D^{20} = + 70^\circ$ (1,4, chloroforme).

Analyse élémentaire : Calculé pour $C_{41}H_{47}NO_{13}$ (761,821) :
C, 64,69 ; H, 6,22 ; N, 1,84.

Trouvé : C, 64,5 ; H, 5,96 ; N, 1,79.

Le spectre RMN est conforme à la structure recherchée.

5: Préparation du benzyl 2-acétamido-3,6-di-O-benzyl-2-désoxy-4-O-(α -L-idopyranosyl)- α -D-glucopyranoside (composé 24) -

- 10 Le composé 23 (380 g) est dissous dans du tétrahydrofurane (8 ml) fraîchement distillé. Après refroidissement à 0°C sous atmosphère d'azote, l'hydrure de bore (BH_3 , 1M dans THF, 1 ml) est ajouté puis on laisse la température remonter jusqu'à la température ambiante. Après une heure de
- 15 réaction, une nouvelle addition d'hydrure est effectuée (1ml). Après 30 minutes, de l'éthanol est ajouté goutte à goutte. Lorsque le dégagement gazeux a cessé, le mélange est dilué par du THF (10 ml). De la soude (3 M, 1,2 ml) est ajoutée suivie par de l'eau oxygénée (120 vol ; 0,8 ml). Après
- 20 deux heures à 50°C, la solution est versée dans du chloroforme. La phase chloroformique est lavée avec une solution aqueuse d'acide chlorhydrique (0,1N) puis avec de l'eau. Après séchage (Na_2SO_4) et concentration à sec, le résidu est chromatographié sur une colonne de gel de silice (45 g) dans un mélange acétate d'éthyle/méthanol (15/4 ; v/v). Le
- 25 dérivé 24 est élué d'abord (63 mg ; 15 %) suivi du dérivé 18. (225 mg ; 54%) Le dérivé 24 est cristallisé dans un mélange acétate d'éthyle/méthanol. p.f. 191°C. $[\alpha]_D^{20} = + 64,4^\circ$ (1, méthanol).
- 30 Analyse élémentaire : Calculé pour $C_{35}H_{43}NO_{11} \cdot H_2O$: C, 62,57 ; H, 6,75 ; N, 2,08.
Trouvé C, 62,42 ; H, 6,55 ; N, 1,88.

6: Préparation du 2-acétamido-1,3,6-tri-O-acétyl-2-désoxy-4-O(2,3,4,6-tétra-O-acétyl- α -L-idopyranosyl)-D-glucopyranose - (Composé 16) -



Une solution du dérivé 24 (35 mg) dans le méthanol (10 ml) est agitée en présence de catalyseur (Pd/C, 5% ; 25mg) sous atmosphère d'hydrogène pendant 48 heures. Après filtration et évaporation, le résidu (17 mg) est

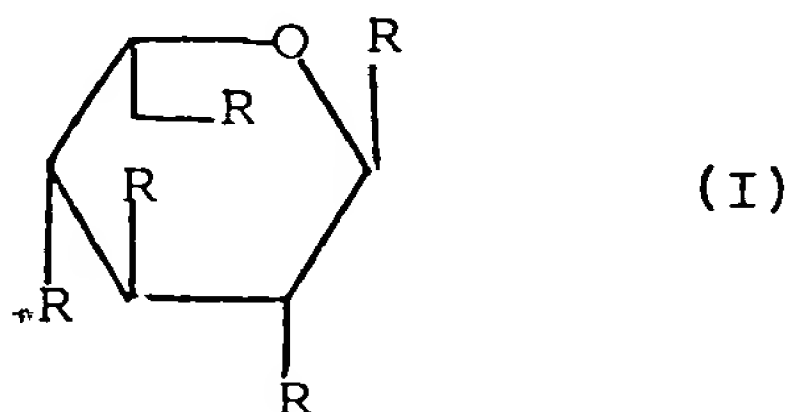
5 acétylé par un mélange pyridine/anhydride acétique (2ml/1ml). Après traitement classique, le résidu est chromatographié sur une colonne de gel de silice (10 g) éluée par l'acétate d'éthyle. Après cristallisation, on obtient le composé 8 (14 mg ; 32%). p.f. 191°C. $[\alpha]_D^{20} = +8^\circ$ (0,6, chloroforme).



REVENDICATION

Procédé de synthèse de chaîne disaccharidique contenant un motif α -L-idopyranose comme unité non réductrice, caractérisé en ce qu'on fait réagir :

A - un bromure d' α -L-idopyranosyle de structure (I)



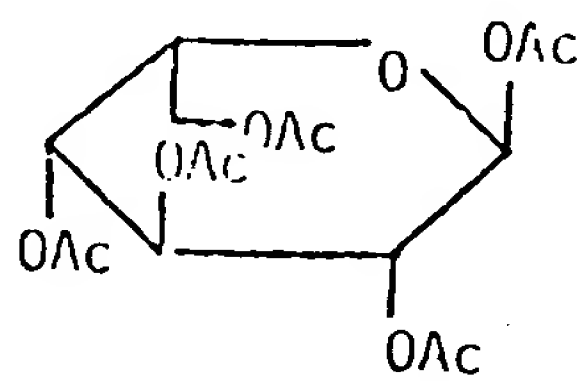
10 dans laquelle l'un quelconque des groupements R représente un atome de brome et les autres groupements, identiques ou différents les uns des autres, représentent des groupes -OY dans lesquels Y représente des groupements protecteurs de radicaux hydroxyle, ou des groupes fonctionnels, ces groupes protecteurs ou ces groupes fonctionnels étant choisis parmi les groupes compatibles, chimiquement inertes dans les conditions mises en oeuvre pour réaliser la synthèse osidique, les groupements protecteurs pouvant en outre être éliminés sélectivement afin d'introduire les

15 groupements désirés sur la chaîne osidique, avec

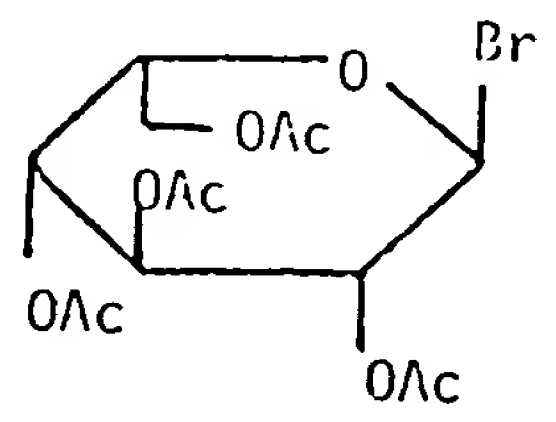
B - un motif ose renfermant un seul groupe -OH, libre, les autres positions étant protégées ou substituées par des groupements répondant aux définitions données ci-dessus pour le bromure et conférant au groupe -OH une réactivité suffisante pour obtenir la condensation souhaitée, cette réaction étant effectuée à une température et pendant une durée suffisante pour obtenir l'établissement d'une liaison osidique entre les deux motifs ose, dans un solvant organique permettant d'opérer à la température requise, et

25 en présence de tamis moléculaire et d'un catalyseur.



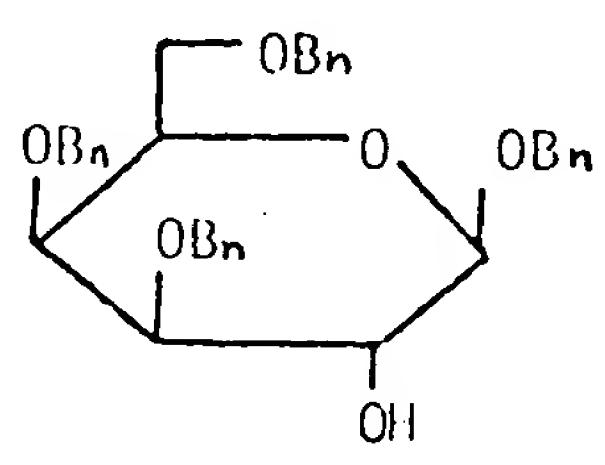


1

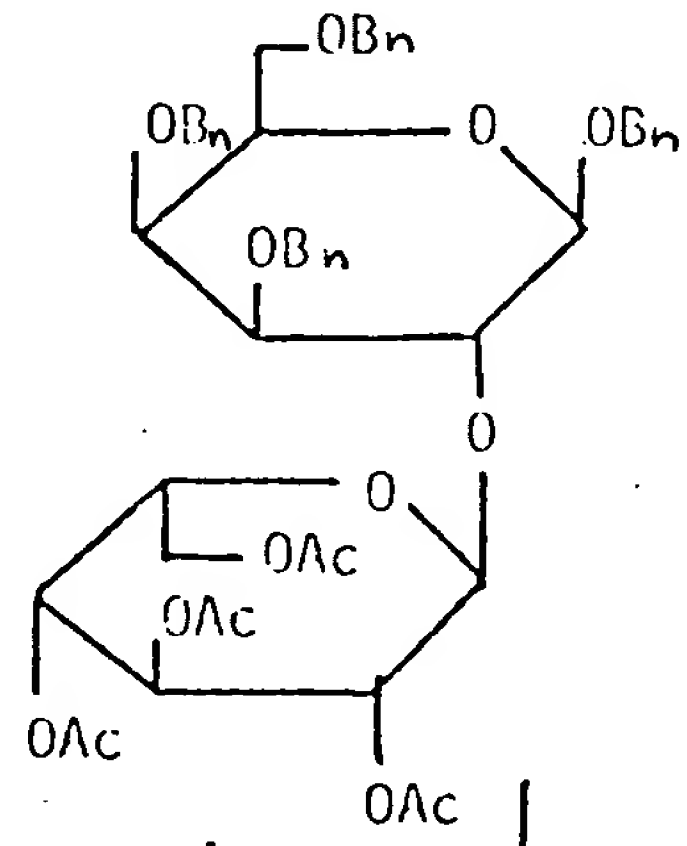


2

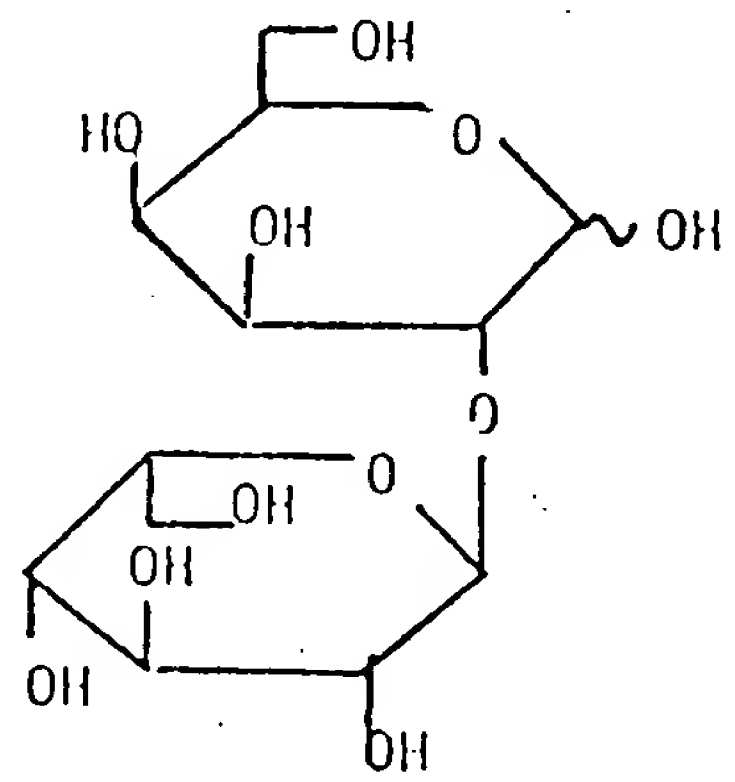
2 +



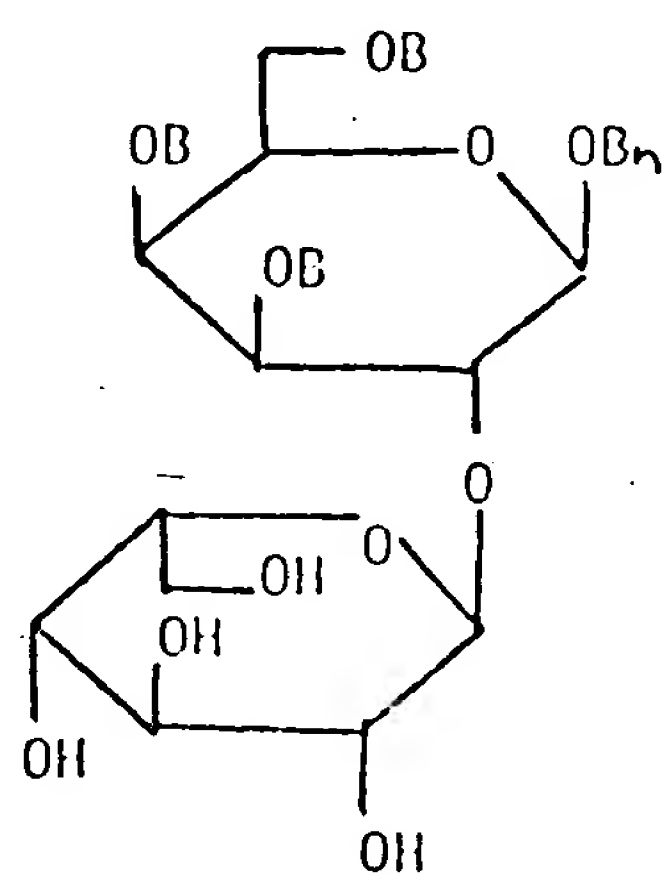
3



4



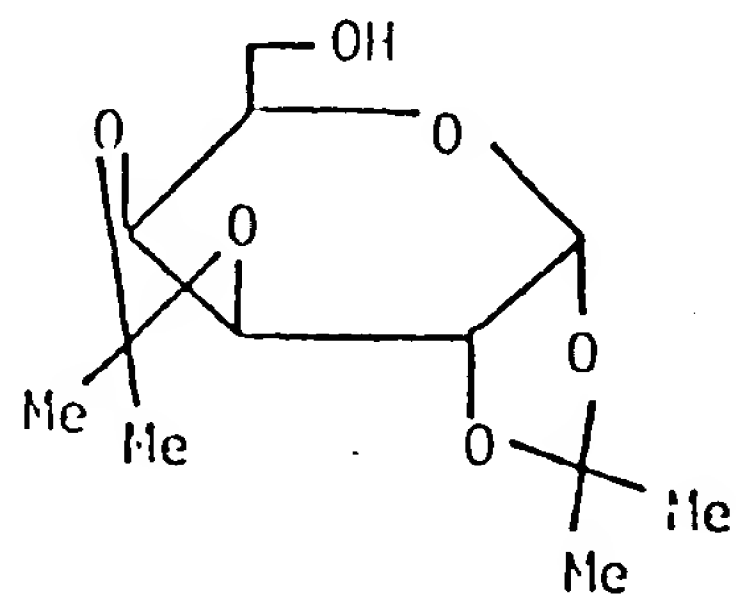
5



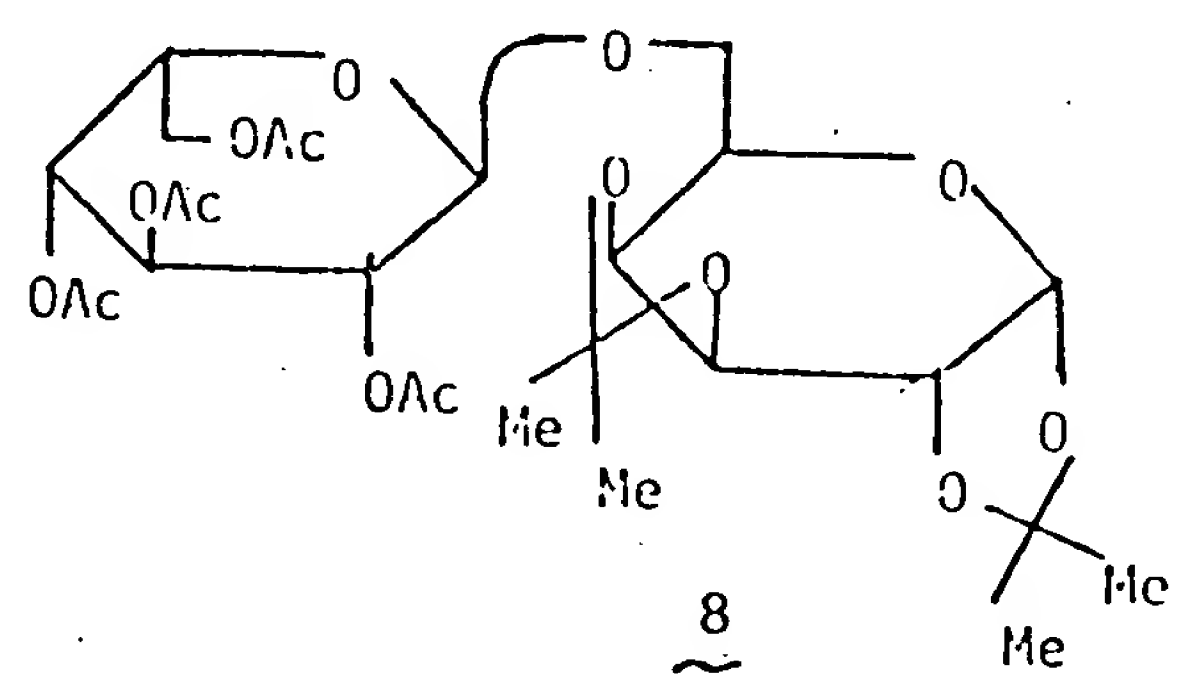
6



2 +

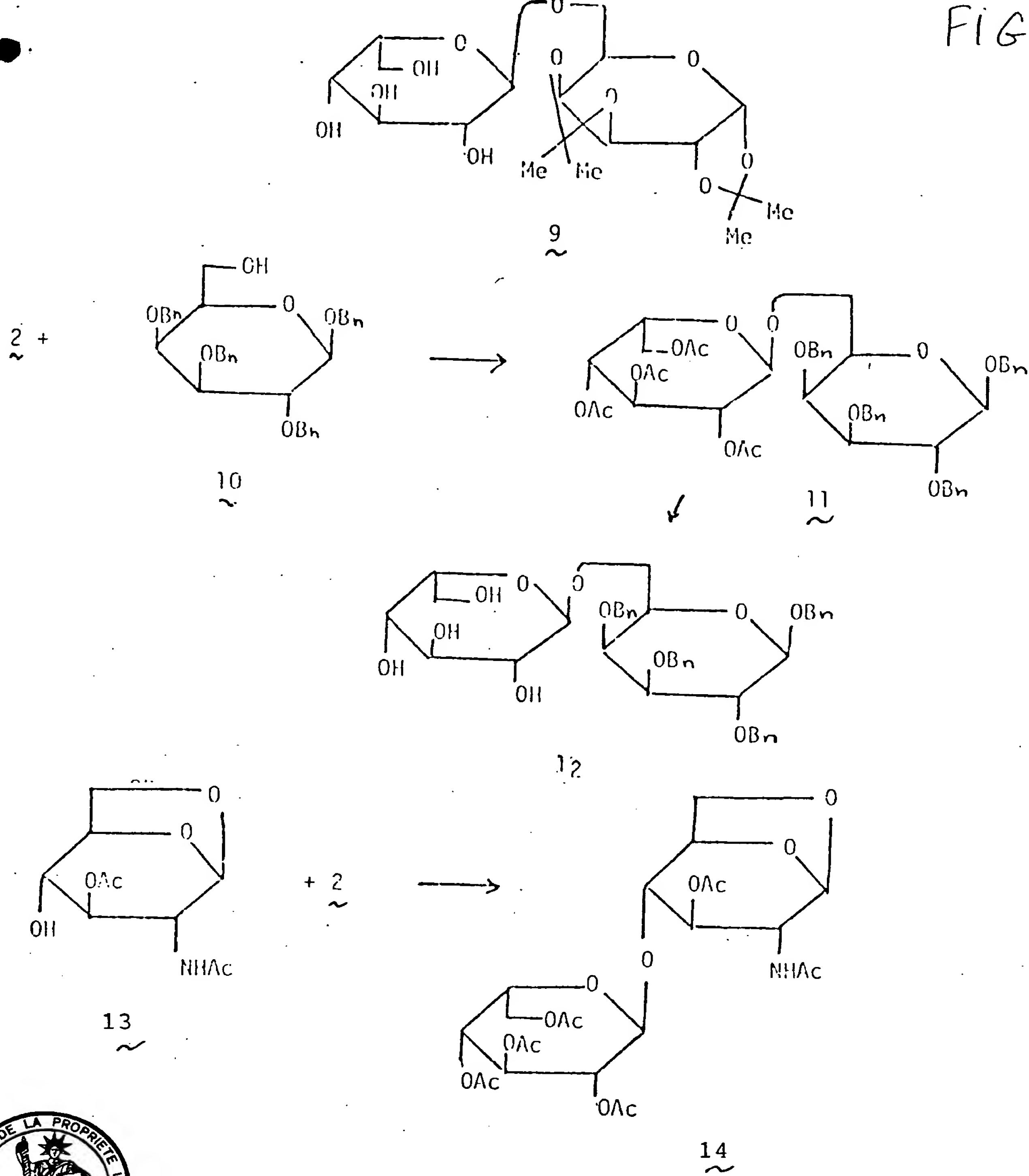


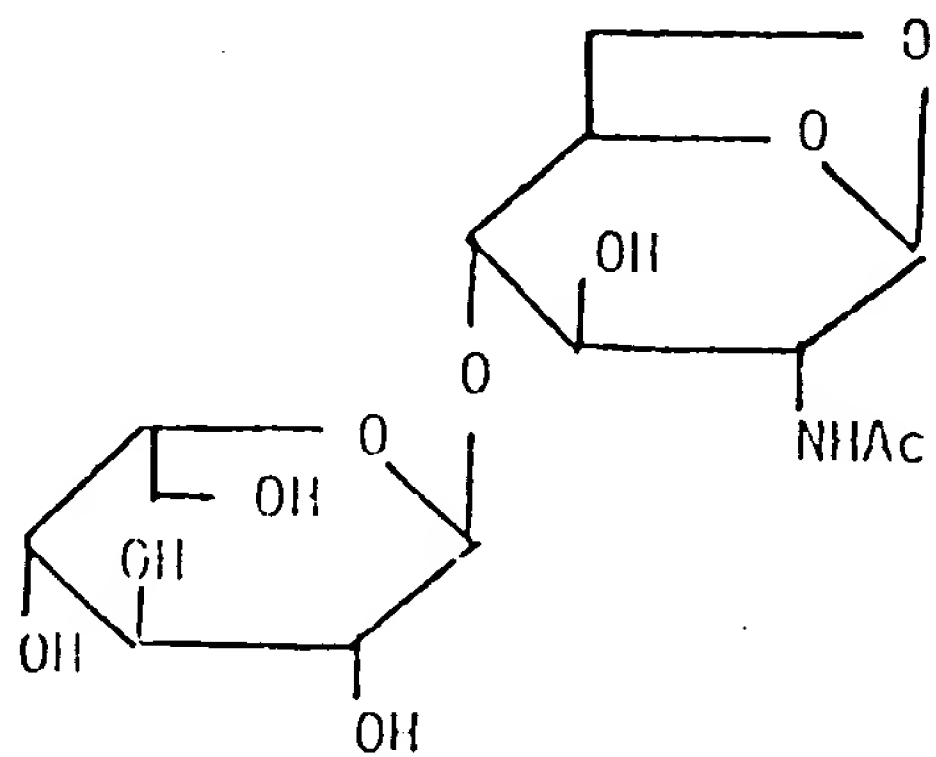
7



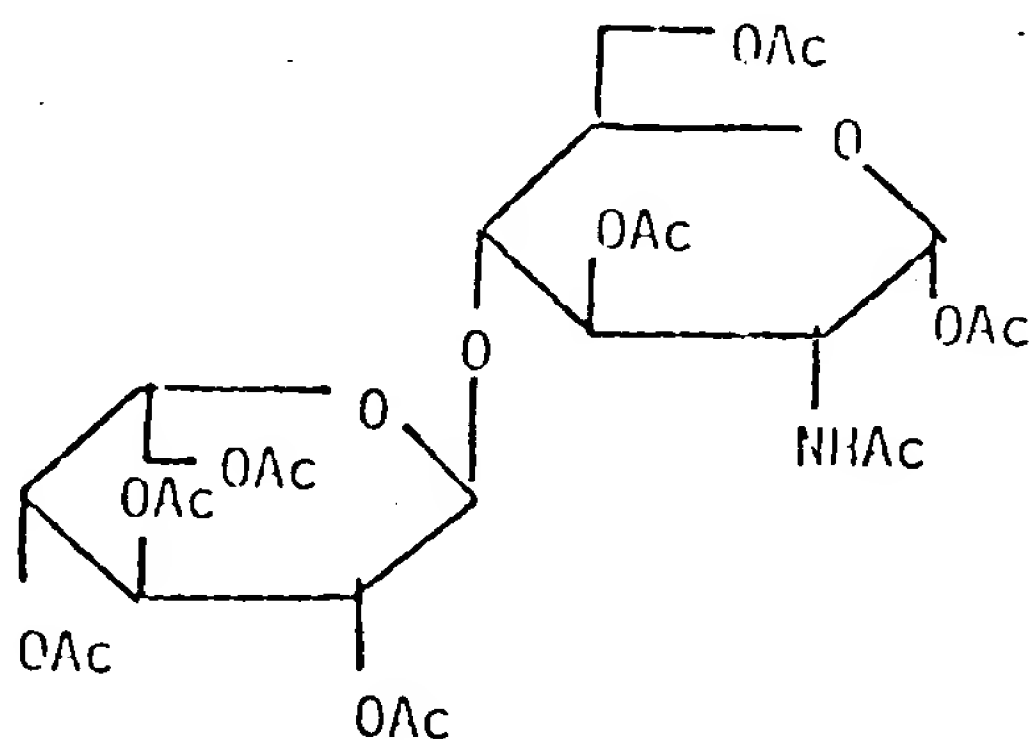
8

FIGURE 2

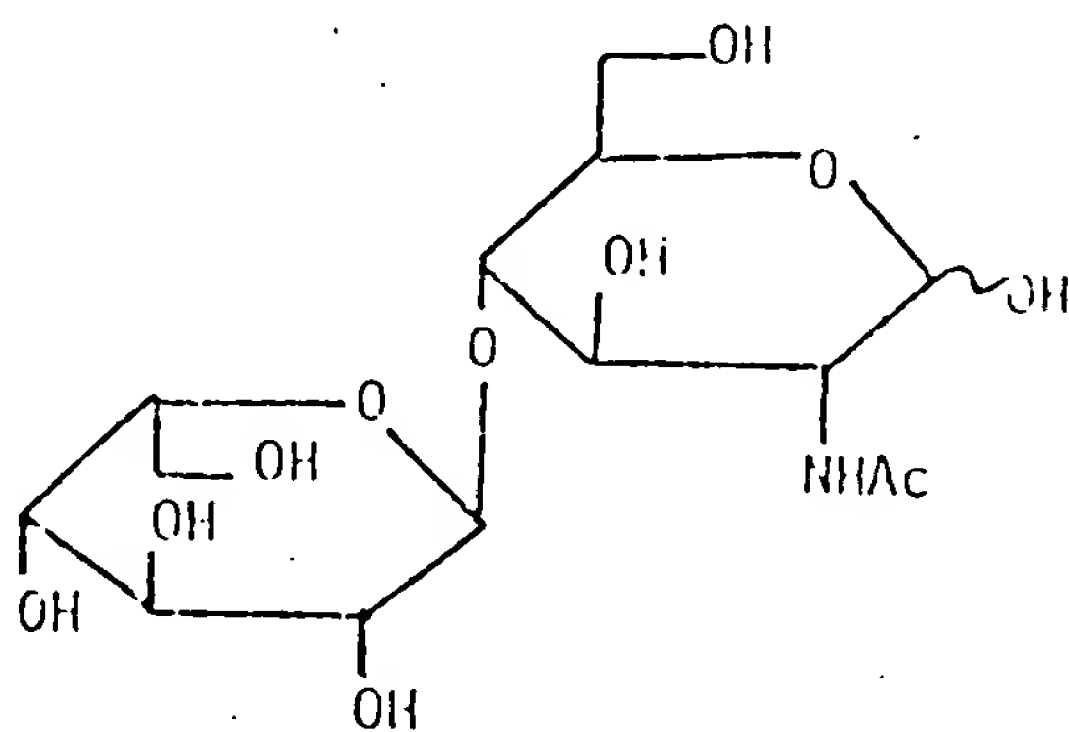




15
~



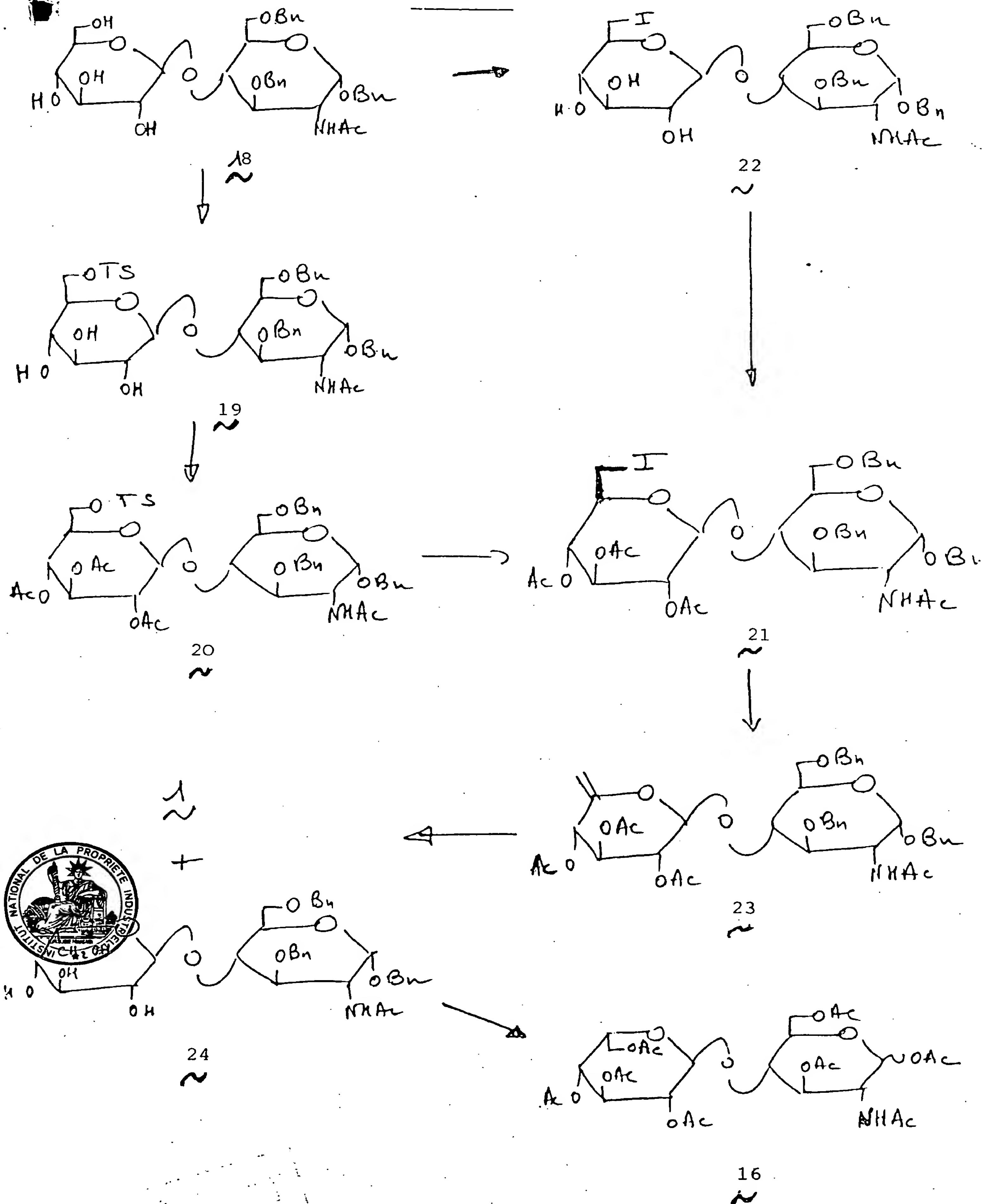
16
~



17
~



FIGURE 4



REVENDEICATIONS

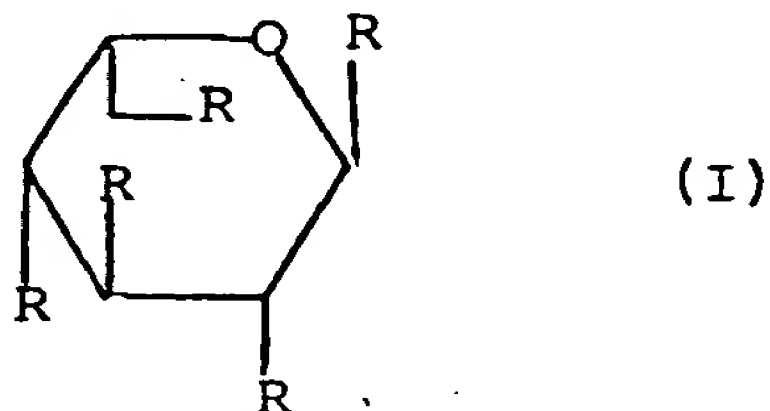
1. Nouveaux disaccharides caractérisés en ce qu'ils sont formés d'un motif de α -L-idopyranose et d'un motif ose B choisi parmi le glucose, le galactopyranose ou un motif ayant la structure de base d'un constituant de chaîne héparinique, en particulier un motif D-glucosamine.

2. Disaccharides selon la revendication 1, caractérisés en ce que les motifs ose sont reliés par une liaison glycosidique de type α ,L.

3. Disaccharides selon la revendication 1 ou 2, caractérisés en ce que le motif ose B est un motif de type N-acétyl-D-glucosamine.

4. Procédé de synthèse de chaîne disaccharidique contenant un motif α -L-idopyranose comme unité non réductrice, caractérisé en ce qu'on fait réagir :

- un bromure d' α -L-idopyranosyle A, de structure (I)



dans laquelle l'un quelconque des groupements R représente un atome de brome et les autres groupements, identiques ou différents les uns des autres, représentent des groupes-OY dans lesquels Y représente des groupements protecteurs de radicaux hydroxyle, ou des groupes fonctionnels, ces groupes protecteurs ou ces groupes fonctionnels étant choisis parmi les groupes compatibles, chimiquement inertes dans les conditions mises en oeuvre pour réaliser la synthèse osidique, les groupements protecteurs pouvant en outre être éliminés sélectivement afin d'introduire les groupements désirés sur la chaîne osidique, avec

- un motif ose B renfermant un seul groupe -OH, libre, les autres positions étant protégées ou substituées par des groupements répondant aux définitions données ci-dessus pour le bromure et conférant au groupe -OH une



23 JUN. 1967

réactivité suffisante pour obtenir la condensation souhaitée, cette réaction étant effectuée à une température et pendant une durée suffisante pour obtenir l'établissement d'une liaison osidique entre les deux motifs ose, dans un solvant organique permettant d'opérer à la température requise, et en présence de tamis moléculaire et d'un catalyseur.

5. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que les groupements protecteurs sont choisis parmi les groupements benzyle, benzylidène, acétyle ou encore des ponts anhydro entre deux groupements -OH.

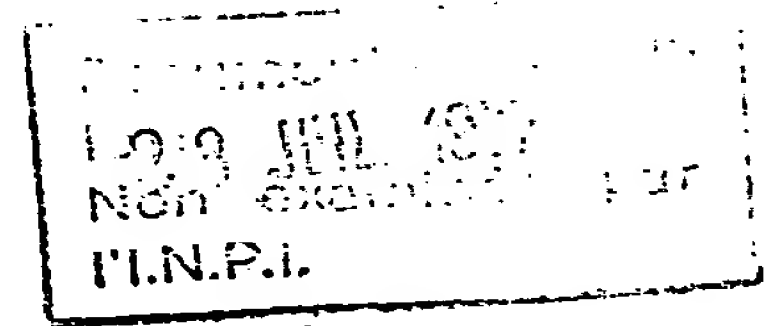
6. Procédé selon la revendication 1 ou 2, caractérisé en ce que le motif B est constitué par un glucopyranose comportant en position 2, un groupe de type-NHX dans lequel X représente un groupe acétyle.

7. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisé en ce que dans le dérivé d' α -L-idopyranosyle A, l'atome de brome occupe la position 1 et le motif ose B comporte le groupe -OH libre en position 4.

8. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisé en ce qu'on utilise comme catalyseur, des dérivés mercuriques tels que le cyanure ou le bromure mercurique.

9. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, caractérisé en ce qu'on utilise à la place de A, un motif sucre A' à structure glucopyranose et qu'après obtention de disaccharide on effectue une isomérisation de la fonction alcool primaire en position 6, cette isomérisation étant avantageusement réalisée par hydrogénation d'une double liaison sur le carbone en position 6, à l'aide d'un agent d'hydrogénation tel que l'hydrure de bore, dans des conditions, notamment de concentration en réactifs, de température et durée de réaction, permettant la réalisation de l'hydrogénation souhaitée sans altération de la structure, puis on procède aux opérations de blocage et/ou aux introductions de groupements fonctionnels





souhaités.

10. Procédé selon la revendication 9, caractérisé en ce que la double liaison sur le carbone en position 6 est obtenue par traitement d'un disaccharide comportant un groupe $-\text{CH}_2\text{I}$ en 6 à l'aide de fluorure d'argent le
5 groupe $-\text{CH}_2\text{I}$ étant introduit par exemple à l'aide d'un agent d'ioduration tel que le N-iodo-succinimide.

10

